

SÉRIE “Biologie”

[https://doi.org/10.52058/2695-1592-2024-7\(38\)-267-278](https://doi.org/10.52058/2695-1592-2024-7(38)-267-278)

Ольга Панівська

аспірантка

*Волинського національного університету імені Лесі Українки,
м. Луцьк, Україна,*

<https://orcid.org/0000-0002-1280-4458>

Віктор Шевчук

кандидат ветеринарних наук

*Національного університету біоресурсів і природокористування України,
м.Київ, Україна,*

<https://orcid.org/0000-0002-1280-4458>

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДІВ ПЕРЕДПОСІВНОЇ ОБРОБКИ ДОСЛІДЖУВАНОВОГО МАТЕРІАЛУ З МЕТОЮ ВИДІЛЕННЯ МІКОБАКТЕРІЙ

Анотація. Зростання захворюваності великої рогатої худоби на мікобактеріози – інфекційні захворювання, що спричиняються нетуберкульозними мікобактеріями, стає актуальною ветеринарною проблемою. Мікобактеріози тварин у більшості країн світу знаходяться у полі пильної уваги науковців ветеринарної медицини. В Україні постійно зростає кількість господарств, де виявляють продуктивних тварин з параалергічними реакціями на туберкулін. Це призводить до ускладнення життєвої діагностики туберкульозу. Тому вивчення природи таких неспецифічних алергічних реакцій стає у ряд актуальних питань ветеринарної науки. Остаточне вирішення природи етіологічного чинника у таких випадках залежить від чіткості організації мікробіологічного дослідження біологічного матеріалу. У свою чергу результат мікробіологічного дослідження визначається насамперед правильністю вибору та ефективністю методу і засобів передпосівної обробки біологічного матеріалу.

Ключові слова: мікобактеріози, туберкульоз, туберкулін, алерген атипових мікобактерій, лабораторна діагностика, атипові мікобактерії, нетуберкульозні мікобактерії, велика рогата худоба.

Olha Panivska

*graduate student of the Lesya Ukrainka Volyn National University,
Lutsk, Ukraine,
<https://orcid.org/0000-0002-1280-4458>*

Viktor Shevchuk

*Candidate of Veterinary Sciences of the
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Kyiv, Ukraine,
<https://orcid.org/0000-0002-1280-4458>*

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF METHODS OF PRE-SOWING TREATMENT OF THE TEST MATERIAL IN ORDER TO ISOLATE MYCOBACTERIA

Abstract. The increase in the incidence of cattle on mycobacteriosis - infectious diseases caused by non-tuberculous mycobacteria, is becoming an urgent veterinary problem. Mycobacterioses of animals in most countries of the world are in the field of close attention of scientists of veterinary medicine. In Ukraine, the number of farms that detect productive animals with paraallergic reactions to tuberculin is constantly growing. This leads to a complication of lifetime diagnosis of tuberculosis. Therefore, the study of the nature of such nonspecific allergic reactions becomes a number of topical issues of veterinary science. The final solution of the nature of the etiological factor in such cases depends on the clarity of the organization of the microbiological study of biological material. In turn, the result of microbiological research is determined primarily by the correctness of the choice and effectiveness of the method and means of pre-sowing treatment of biological material.

Keywords: mycobacteriosis, tuberculosis, tuberculin, allergen of atypical mycobacteria, laboratory diagnostics, atypical mycobacteria, non-tuberculous mycobacteria, cattle.

Постановка проблеми. Невпинне зростання захворюваності на туберкульоз та на інфекції, що спричиняються атипovими мікобактеріями (АТМБ) або, так званими, нетуберкульозними мікобактеріями (НТМБ), ставлять проблему контролю мікобактеріальних інфекцій в ряд найважливіших медико-соціальних викликів як у світі взагалі, так і в Україні зокрема [1, 2, 3, 4]. Це веде до зростання напруженості епідемічної ситуації, що потребує негайних та рішучих дій. Одним із дієвих кроків щодо мінімізації потенційних резервуарів

збудників мікобактеріальних інфекцій, зниження рівня інфікування населення НТМБ, а отже зменшення захворюваності населення на мікобактеріози є постійне вдосконалення методів діагностики мікобактеріозів [5, 6, 7].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Мікобактеріози, викликаючи туберкульозоподібні клінічні ознаки, важко діагностуються. АТМБ, володіючи високою стійкістю, є потенційно патогенними для людини й тварин [8]. Однак мікробіологічному вивченню основних характеристик мікобактерій приділяється недостатньо уваги. Мікробіологічне підтвердження етіології мікобактеріозів за допомогою сучасних методів виявлення, виділення та ідентифікації НТМБ за генотиповими властивостями та фенотиповими ознаками є фундаментом успішності клінічної практики в сучасних дуже напружених соціально-економічних умовах [9, 10].

Мікробіологічні лабораторії (клініко-діагностичні, діагностичні лабораторії Центрів охорони здоров'я та Держпродспоживслужби) відіграють ключову роль у бактеріологічній діагностиці мікобактеріозів, а результати їх досліджень є об'єктивним підґрунтям ефективності контролю епідемічної ситуації. Зважаючи на це, важливим напрямком оптимізації роботи діагностичних лабораторій є обов'язкова стандартизація основних методів діагностики мікобактеріальних інфекцій. Впровадження уніфікованих методів мікробіологічної діагностики дасть можливість: отримувати результати, які можна порівнювати з результатами інших лабораторій; своєчасно виявляти та коригувати діагностичні помилки; покращувати підготовку фахівців мікробіологічних відділів, що займаються виділенням та ідентифікацією мікобактерій як туберкульозного, так і нетуберкульозного комплексу; здійснювати оцінку роботи діагностичних лабораторій та професійний рівень фахівців; проводити контроль ефективності лабораторних досліджень.

Проведення порівняльної оцінки методів і засобів передпосівної обробки біологічних матеріалів з метою виділення мікобактерій – один із ключових кроків для уніфікації мікробіологічної діагностики мікобактеріозів у діагностичних лабораторіях [11].

Мета статті. Провести порівняльну оцінку методів передпосівної обробки біологічного матеріалу від великої рогатої худоби за бактеріологічної діагностики мікобактеріозу, спричиненого НТМБ.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були методи і засоби передпосівної обробки біоматеріалу.

Матеріал дослідження:

1. Гомогенат із щойно відібраних лімфатичних вузлів від забитих здорових тварин (велика рогата худоба). Лімфовузли відбирали на сучасному добре обладнаному забійному пункті. Лімфатичні вузли відбирали у стерильні пакети, які розкладали на холодоагенти у термосумці і в охолодженому стані доставляли у лабораторію. Термін від моменту забору лімфатичних вузлів до

виготовлення гомогенату не перевищував 4 год. Гомогенат готували з використанням побутового блендера в умовах, наближених до стерильних

2. 2-мільярдне за оптичним стандартом каламутності суспензії тест-культур мікобактерій таких видів:

- *M. bovis* (вакцинний штам БЦЖ, повільно ростучий),
- *M. fortuitum* (ізолят, виділений в лабораторії туберкульозу, швидкоростучий),
- *M. scrofulaceum* (виділений нами польовий ізолят, повільно ростучий).

3. Досліджувані суміші (ДС), до складу яких входили гомогенат із лімфатичних вузлів (10 г) та 2-мільярдне бактеріальні суспензії по 1 см³.

4. 5% розчин сульфатної кислоти (H₂SO₄), 4% розчин натрію гідроксиду (NaOH), 10% розчин три замщеного натрію фосфату (ТНФ), 1 % розчин лимонної кислоти, 0,85% розчин натрію хлориду; всі розчини, посуд та інші розхідні матеріали були стерильні.

5. Для виділення культур мікобактерій із тест-об'єктів використали свіжоприготовлене середовище Левенштейна-Йєнсена (СЛЙ).

Всі роботи із культурами проводили у бактеріологічному боксі, що має 2-й рівень біобезпеки.

Передпосівну підготовку біологічного матеріалу проводили за методикою А.П. Алікаєвої, 4% розчином NaOH (модифікований метод Петрова) і 10% розчином ТНФ [12].

Підготовка досліджуваного матеріалу за методом А.П. Алікаєвої.

Готували 4 порції по 10 г гомогенату лімфатичних вузлів і додавали до першої порції 1 см³ 2-мільярдної суспензії культур *M. bovis* (дослід №1), до другої – 1 см³ 2-мільярдної суспензії *M. fortuitum* (дослід №2), до третьої – 1 см³ суспензії *M. scrofulaceum* (дослід №3) і до четвертої – 1 см³ фізрозчину (дослід №4, контроль). Кожну порцію гомогенату старанно змішували із суспензією доданої культури на вортексі і до кожної із чотирьох сумішей вносили рівний об'єм 5% розчину H₂SO₄, знову старанно перемішували і центрифугували при 3000 об/хв. протягом 15 хв. При цьому слідкували, щоб дія кислоти на мікобактерії не перевищила 15 хв., як це передбачено методикою. Після цього надосадову рідину зливали і додавали стерильний фізрозчин, старанно перемішували і за допомогою індикаторних смужок нейтралізували кислу реакцію суміші декількома краплями 4 % розчину NaOH. Нейтралізовану суміш старанно перемішували, додавали фізрозчин до попереднього об'єму і центрифугували при 3000 об/хв. протягом 15 хв.. Надосадову рідину зливали, а з осаду готували мазки для фарбування за Ціль-Нільсеном (для звичайної світлової мікроскопії) і аураміном О (для люмінесцентної мікроскопії), робили посіви на середовище Левенштейна-Йєнсена у пробірках. На кожний дослід брали по 10 пробірок середовища. Посіви інкубували за 37 °С.

Підготовка досліджуваного матеріалу з використанням 4% розчину їдкою натру (модифікований метод Петрова).

Гомогенат лімфатичних вузлів ділили на 4 порції по 10 г кожна. До однієї порції додавали 1 см³ 2-мільярдної суспензії культур *M. bovis* (дослід №1), до другої – 1 см³ 2-мільярдної суспензії *M. fortuitum* (дослід №2), до третьої – 1 см³ суспензії *M. scrofulaceum* (дослід №3) і до четвертої – 1 см³ фізрозчину (дослід №4, контроль). Кожну порцію гомогенату старанно змішували із суспензією доданої культури на вортексі і до кожної суміші додавали рівний об'єм 4% розчину NaOH. Отриману суміш витримували протягом 15 хв. при кімнатній температурі, періодично перемішуючи старанним струшуванням пробірок. Після цього пробірки центрифугували при 3000 обертів протягом 15 хв. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали по краплях 1 % розчин лимонної кислоти до отримання нейтрального рН, яке контролювали індикаторними смужками. До сумішей додавали рівний об'єм фізрозчину, старанно перемішували і центрифугували при 3000 обертів протягом 15 хв. Надосадову рідину видаляли, а з осаду готували мазки для фарбування за Ціль-Нільсеном і аураміном О та проводили посіви на середовище Левенштейна-Йєнсена (по 10 пробірок на дослід).

Загальний час оброблення матеріалу лугом не перевищував 40 хв.

Підготовка досліджуваного матеріалу з використанням розчину ТНФ.

Гомогенат лімфатичних вузлів ділили на 4 порції по 10 г кожна. До однієї порції додавали 1 см³ 2-мільярдної суспензії культур *M. bovis* (дослід №1), до другої – 1 см³ 2-мільярдної суспензії *M. fortuitum* (дослід №2), до третьої – 1 см³ суспензії *M. scrofulaceum* (дослід №3) і до четвертої – 1 см³ фізрозчину (дослід №4, контроль). Кожну порцію гомогенату старанно змішували із суспензією доданої культури на вортексі і суміш заливали 2-кратною кількістю 10% розчину ТНФ, суміш знову старанно перемішували, закривали кришкою і ставили на 24 год в термостат за 37 °С, періодично помішуючи. Після цього пробірки центрифугували при 3000 обертів протягом 15 хв. Надосадову рідину зливали, а осад нейтралізували 1 % розчином лимонної кислоти до отримання нейтрального рН, яке контролювали індикаторними смужками. Знейтралізований осад ще раз відмивали фізрозчином шляхом центрифугування у загаданому вище режимі. Надосадову рідину зливали у банки із дезінфектантом, а з осаду готували мазки для фарбування за Ціль-Нільсеном і аураміном О та висівали у пробірки із середовищем Левенштейна-Йєнсена (по 10 пробірок на дослід).

Світлова мікроскопія мікропрепаратів за Ціль-Нільсеном.

На добре знежиреному предметному склі робили тонкий мазок із осаду, висушували і фіксували метанолом. На препарат накладали смужку фільтрувального паперу, наносили карболовий розчин фуксину і нагрівали над



полум'ям пальника до появи пари, але так, щоб фарба не закипіла, а папір не висихав. Підігрітий мазок залишали на 5 хв.. Тоді папір знімали і наносили знебарвлюючий розчин (5% сульфатну кислоту) на 3 хв., промивали та дофарбовували метиленовим синім протягом 1 хв. Мікобактерії забарвлювалися в малиново-червоний колір, а інші мікроорганізми і клітинні елементи – у блакитний.

Люмінесцентну мікроскопію препаратів для виявлення кислотостійких мікобактерій здійснювали наступним чином. На фіксований мазок через фільтрувальний папір наносили забарвлюючий розчин (спиртовий розчин аураміну О) на 15 хв. Мікропрепарат промивали дистильованою водою та наливали знебарвлюючий розчин (0,5% розчин солянокислого спирту) на 2 хв. Знов промивали препарат дистильованою водою і дофарбовували розчином перманганату калію з використанням фільтрувального паперу протягом 2 хв. Мазок промивали та залишали препарат на повітрі за кімнатної температури у вертикальному положенні [13]. Мікропрепарати розглядали під середнім збільшенням мікроскопа. У робочому зошиті фіксували кількість мікробних тіл в одному полі зору, що давали позитивне люмінесцентне свічення. В кожному мікропрепараті досліджували не менше 25 полів зору, сумували кількість виявлених мікробних тіл і з цієї суми визначали середнє арифметичне кількості мікробних тіл в одному полі зору для кожного виду тест-мікробів за того чи іншого способу передпосівної обробки біологічного матеріалу.

Виклад основного матеріалу. Більшість зразків матеріалу, що надходять до мікробіологічної лабораторії для бактеріологічного дослідження з метою виділення збудника туберкульозу, містять різну кількість супутніх бактерій. За висіву досліджуваного матеріалу на живильні середовища ці бактерії швидко розмножуються, заважаючи розвитку мікобактерій і тим самим ускладнюють їх культивування. Зважаючи на це, біологічний матеріал, який поступає в лабораторію для виділення мікобактерій, піддають спеціальній передпосівній обробці, яка викликає розрідження біоматеріалу з метою вивільнення мікобактерій із тканин та клітин, та деконтамінацію гноєродної та гнилісної мікрофлори.

Для розрідження та деконтамінації досліджуваного матеріалу використовують різні засоби, проте всі вони мають певний рівень токсичності для мікобактерій [10]. Щоб гарантувати виживання достатньої кількості мікобактерій, застосовують так звані щадні методи обробки. Вони пригнічують ріст швидкоростучих гнійних та гнильних бактерій, але водночас зберігають життєздатність мікобактерій, які присутні в матеріалі [14].

Рівень контамінації посівів, тобто кількість сторонніх мікроорганізмів у свіжозібраних зразках, зазвичай становить 2,5% при культивуванні будь-якого матеріалу на щільних яечних середовищах. Якщо матеріал зберігався протя-

гом кількох днів, а, тим паче, у невідповідних умовах до надходження в лабораторію, то частота контамінації може сягати 5 і більше відсотків, що є неприпустимим [15]. З іншого боку, якщо кількість сторонніх колоній менше 2%, то це може бути свідченням надмірно жорсткого режиму деконтамінації, що може призвести до загибелі значної кількості мікобактерій, які містяться в діагностичному матеріалі [14, 15].

Для уніфікації результатів мікробіологічних досліджень з метою первинного виділення мікобактерій запропоновано низку методів, що передбачають застосування певних правил підготовки, засобів гомогенізації та деконтамінації досліджуваного матеріалу. При цьому враховувалися наступні моменти:

- зразки біоматеріалу повинні бути старанно гомогенізовані, з метою якомога повнішого вивільнення мікобактерій із тканин;
- обидва процеси (гомогенізація і деконтамінація) не повинні суттєво зменшувати кількість мікобактерій у досліджуваному матеріалі.

Крім цього потрібно враховувати чутливість мікобактерій до підвищеної лужності чи кислотності розчинів та тривалості впливу деконтамінантів на досліджуваний матеріал, температурні умови обробки матеріалу.

В нашому досліді ми поставили за мету дати порівняльну оцінку ефективності трьох загально прийнятих методів передпосівної обробки матеріалів. Головними умовами досліду були однотипність біологічного матеріалу, як основи для передпосівної обробки, та однакова за концентрацією мікробної маси та умовами її приготування суспензії трьох різних видів мікобактерій.

Як біологічний матеріал використали гомогенат із свіжо відібраних лімфатичних вузлів від клінічно здорових тварин, які за алергічного дослідження на туберкульоз симультанною пробою не дали позитивних реакцій, тобто тварини не були хворі на туберкульоз і не були сенсibilізовані атипovими мікобактеріями.

Як тест-культури використали 2-мільярдні суспензії таких видів мікобактерій, як *M. bovis* (дослід №1), *M. fortuitum* (дослід №2), *M. scrofulaceum* (дослід №3). В контрольному досліді до гомогенату додавали 0,85 % розчин натрію хлориду в такій самій кількості, як і взяті у дослід тест-культури мікобактерій.

Кожний вид дослідного гомогенату піддавали передпосівній обробці трьома вище описаними способами – за А.П. Алікаєвою, за Петровим і ТНФ.

Результати проведених дослідів показані у табл. 1 і 2.

Таблиця 1.

Результати мікроскопічного дослідження гомогенатів лімфатичних вузлів, змішаними із 2-мільярдами суспензіями тест-культур мікобактерій туберкульозного і нетуберкульозного комплексу за різних методів передпосівної обробки матеріалу

Метод обробки матеріалу	Виявлено типові кислотостійкі мікобактерії у мікропрепаратах, виготовлених із :							
	Гомогенату лімфатичних вузлів + 2-мільярдна суспензія культури							
	Дослід №1		Дослід №2		Дослід №3		Дослід №4	
	<i>M. bovis</i>		<i>M. fortuitum</i>		<i>M. scrofulaceum</i>		Фізрозчин	
	Ц-Н	ЛМ	Ц-Н	ЛМ	Ц-Н	ЛМ	Ц-Н	ЛМ
За Алікаєвою	КС+	ЛС+	КС+	ЛС+	КС+	ЛС+	–	–
За Петровим	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	–	–
ТНФ	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	ЛС+	–	–

Примітка: Ц-Н – фарбування мікропрепаратів за Ціль-Нільсеном; ЛМ – фарбування мікропрепаратів аураміном О; КС+ – виявлено яскраво-червоні кислотостійкі палички; ЛС+ – виявлено характерне люмінесцентне свічення тонких паличок;

Із даних, наведених даних табл. 1, видно, що внесена кількість туберкульозних паличок у гомогенати лімфатичних вузлів є досить високою (теоретично це становить 0,2 млрд/см³ гомогенату), і за будь-якої передпосівної обробки матеріалу із трьох, що ми випробовували, дає можливість виявляти мікобактерії у кожному полі зору як методом світлової мікроскопії (фарбування за Ціль-Нільсеном), так і методом люмінесцентної мікроскопії (фарбування аураміном О).

Кількісну оцінку ефективності методів передпосівної обробки гомогенатів за допомогою світлової мікроскопії за Ціль-Нільсеном дати неможливо, бо більшість виявлених кислотостійких мікобактерій знаходяться не ізольовано, а у виді більших чи менших конгломератів і навіть збільшення мікрофотографії того чи іншого поля зору за допомогою спеціальних програм не дає такої можливості. Очевидно це пов'язано з тим, що мікобактерії всіх трьох видів у своїй клітинній стінці містять високий вміст воско- і жироподібних речовин, що у середовищі з високим вмістом води, змушує їх триматися купи. Це явище лежить в основі корд-фактору – явища, дуже характерного для мікобактерій туберкульозного комплексу. І чим вищий вміст гідрофобних субстанцій у клітинній стінці мікобактерій, тим більше мікобактерій об'єднуються у такі конгломерати. А тому кількісна оцінка, яку ми намагалися провести, застосовуючи мікроскопічний метод (в обох варіантах), виявився не вдалим і, звісно, далеким до об'єктивності. Виявлення у мазках мікобактерій свідчить про їх наявність. Але не дає відповіді на питання – живі вони чи не живі?

Тому про ефективність того чи іншого методу передпосівної обробки може дати лише бактеріологічний метод з використанням живильних середовищ, яке забезпечують ріст і розмноження як мікобактерій туберкульозного, так і нетуберкульозного комплексу, тобто НТМБ.

Дещо іншу картину спостерігаємо за оцінки впливу методів передпосівної обробки гомогенатів на кількість мікобактерій, що вижили під впливом деконтамінантів, які передбачає той чи інший метод. Так, із даних наведених у табл. 2, бачимо, що ріст характерних колоній виявлено у всіх дослідних пробірках. У цій таблиці ми не акцентували уваги на швидкості росту тест-культур, тобто не вказували на яку добу від часу посіву з'являлися перші колонії, бо це не було метою дослідження, а тому не мало принципового значення. Важливим було, скільки колоній появилось на засіяних пробірках, тобто скільки бактерій за обробки тим чи іншим методом залишилися життєздатними і утворили колонії.

Таблиця 2.

Результати мікробіологічного дослідження гомогенатів лімфатичних вузлів, змішаними із 2-міліардними суспензіями тест-культур мікобактерій туберкульозного і нетуберкульозного комплексу за різних методів передпосівної обробки матеріалу

Метод обробки матеріалу	Характер росту та кількісні показники росту на середовищі Левенштейна-Йєнсена			
	Гомогенат лімфатичних вузлів + 2-міліардна суспензія культури			
	Дослід №1	Дослід №2	Дослід №3	Дослід №4
	<i>M. bovis</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	Фізрозчин
За Алікаєвою	Рхк+; КК +2	Рхк-; КК +1	Рхк-; КК +1	Рхк-
За Петровим	Рхк+; КК +3	Рхк+; КК +2	Рхк+; КК +2	Рхк-
ТНФ	Рхк+; КК +4	Рхк+; КК +3	Рхк+; КК +4	Рхк-

Примітка: Рхк+ – є ріст характерних колоній ; Рхк- – ріст характерних колоній відсутній; КК – кількість колоній; цифри від +1 до +4 – вказують на середню кількість колоній, виявлених у засіяній пробірці із середовищем Левенштейна-Йєнсена; 1 – до 10 колоній; 2 – до 20 колоній; 3 – до 50 колоній; 4 – більше 50 колоній або суцільний газон.

Як свідчать результати, наведені у табл. 2, передпосівна обробка гомогенату сульфатною кислотою (за Алікаєвою) виявилася на найбільш жорсткою, як відносно повільно зростаючих (*M. bovis*, *M. scrofulaceum*), так і швидко зростаючих (*M. fortuitum*). Так, у гомогенатах усіх трьох дослідів спостерігаємо ріст характерних для цього виду колоній, але їх кількість на поверхні середовища є нижчою (до 10 колоній – для *M. bovis* і до 10 колоній – для *M. fortuitum* і для *M. scrofulaceum*) у порівнянні із такими за підготовки гомогенатів за Петровим (до 30 колоній – для *M. bovis* і до 20 колоній – для *M. fortuitum* і для *M. scrofulaceum*) чи ТНФ ((до 40 колоній – для *M. bovis*, до 30 колоній – для *M. fortuitum* і до 30 колоній – для *M. scrofulaceum*).



Цей факт можна пояснити значно вищим вмістом аліфатичних радикалів із високим рівнем атомів вуглецю, що надає їм високої гідрофобності, а отже і стійкості до негативного впливу іонів сульфатної кислоти і лугу, як сильних деконтамінантів. 10% розчин натрію фосфату виявся найбільш щадним деконтамінантом, що підтверджує результати дослідів, отриманих іншими науковцями [16, 17].

Висновки. Результати дослідів з вивчення деконтамінантної ефективності різних способів передпосівної обробки біологічних матеріалів свідчать про те, що найбільш щадним способом є обробка ТНФ (10% розчин натрію фосфату), менш щадним є застосування 4% розчину калію гідроксиду (метод Петрова) і найбільш жорстким – обробка 5% сульфатною кислотою (метод Алікаєвої).

Вибір того чи іншого методів передпосівної обробки матеріалів з метою виділення мікобактерій буде залежати від того, який вид мікобактерій потрібно виділити: якщо це будуть ТМБ (мікобактерії туберкульозного комплексу), то кращим буде спосіб Алікаєвої; якщо потрібно ізолювати повільно ростучі НТМБ, то у цьому випадку слід використати метод Петрова, який є не лише ефективним деконтамінантом, але добрим розріджувачем; обробка ТНФ як метод передпосівної обробки біоматеріалу найкраще надається для виділення швидко зростаючих НТМБ.

Література:

1. Сайт O.W.H. «Global tuberculosis report 2022» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/363752>.
2. Gopaldaswamy R., Of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infections - a comparative analysis of epidemiology, diagnosis and treatment / S. Shanmugam, R. Mondal, S. Subbian // *J Biomed Sci.* – 2020. – №27(74). – P. 1-17.
3. Lipman M. Current and future management of non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM-PD) in the UK / M. Lipman, J. Cleverley, T. Fardon, B. Musaddaq, D. Peckham, R. van der Laan et al. // *BMJ Open Respir. Res.* – 2020. – 7. – e000591.
4. Завгородній А. І. Псевдоалергічні реакції на туберкулін у великої рогатої худоби / А. І. Завгородній, В. В. Білушков, М. В. Калашник, С. А. Позмогова, Н. В. Калашник // *Ветеринарна біотехнологія.* – 2018. – №32(2). – С. 176-184.
5. Кассіч В. Ю. Мікобактерії та їх диференціація / В. Ю. Кассіч // *Ветеринарна медицина.* – 2013. – №2(32). – С. 106-109.
6. Дяченко Г. М. Проблема діагностики туберкульозу сільськогосподарських тварин у сучасних умовах / Г. М. Дяченко, Н. О. Кравченко, В. П. Романенко // *Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб.* – 2005. – №85. – С. 1236-1240.
7. Бойко П. К. Особливості інфекційного та епізоотичного процесу за мікобактеріозу великої рогатої худоби, спричиненого атипівними кислотостійкими мікобактеріями / П. К. Бойко, С. А. Ничик, О. П. Бойко, Ю. М. Мандигра, В. М. Шевчук // *Ветеринарна біотехнологія.* – 2020. – №37. – С. 7-19.
8. Тодоріко Л. Д. Сучасні аспекти легеневого мікобактеріозу (аналітичний огляд) / Л. Д. Тодоріко, О.С. Шевченко // *Актуальна інфектологія.* – 2016. – №4(13). – С. 13-21.

9. Busol V. Pathomorphological changes in the organs of the peripheral immune system in mycobacteriosis of cattle / V. Busol, P.Boiko, M. Bednarski, V.Shevchuk, V. Mazur // *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*. – 2023. – №14(2). – P. 9-17.

10. Журило О. А. Вивчення видової різноманітності нетуберкульозних мікобактерій в областях України з використанням класичного бактеріологічного методу і сучасного генетичного ДНК-стрипового GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Німеччина) / О. А. Журило, А. І. Барбова, П. С. Трофімова, С. В. Миронченко // *Укр. пульмонол. журн.* – 2019. – №1. – С. 27-30.

11. Лабораторна діагностика туберкульозу тварин : практ. посіб / О. А. Ткаченко, М. В. Білан, В. В. Зажарський, Л. О. Ковальова. – Дніпро : Вид-во «Свідлер А.Л.», 2010. 208 с.

12. Лабораторна діагностика туберкульозної інфекції / Ю. І. Фещенко, О. А. Журило, А. І. Барбова. – Київ : ВСВ «Медицина», 2019. 304 с.

13. Журило О. А. Стандарти бактеріоскопічної діагностики туберкульозу в клініко-діагностичних лабораторіях : монографія / О. А. Журило. – Київ : ВСВ «Медицина», 2010. – 112 с.,

14. Журило О. А. Стандарти бактеріологічної діагностики туберкульозу в лабораторіях протитуберкульозних закладів України : монографія / О. А. Журило. – Кіровоград : Поліум, 2012. 191 с.

15. Журило О. А. Система забезпечення якості бактеріологічних досліджень в закладах, що здійснюють мікробіологічну діагностику туберкульозу на різних рівнях надання медичної допомоги : монографія / О. А. Журило. – Кіровоград : Поліум, 2012. 72 с.

16. Вейсфеллер Ю. К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулеза и атипичные микобактерии / Ю. К. Вейсфеллер. – Будапешт : Изд-во Академии наук Венгрии, 1975. 334 с.

17. Rastogi N. The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis / N. Rastogi, E. Legrand, C. Sola // *Rev Sci Tech*. – 2001. – №20. – 21-54.

References:

1. Sait O.W.H. «Global tuberculosis report 2022» [Site of O.W.H. «Global tuberculosis report 2022»]. www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022. Retrieved from <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022> [in English].

2. Gopaldaswamy, R., Shanmugam, S., Mondal, R., & Subbian, S. (2020). Of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infections - a comparative analysis of epidemiology, diagnosis and treatment. *J Biomed Sci*, 27(74), 1-17 [in English].

3. Lipman, M., Cleverley, J., Fardon, T., Musaddaq, B., Peckham, D., van der Laan, R. et al. (2020). Current and future management of non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM-PD) in the UK. *BMJ Open Respir. Res.*, 7, e000591 [in English].

4. Zavorodniy, A. I., Bilushkov, V. V., Kalashnyk, M. V., Pozmohova, S. A., Kalashnyk, N. V. (2018). Psevdoalerhichni reaktsiyi na tuberkulin u velykoyi rohatoyi khudoby [Pseudoallergic reactions to tuberculin in cattle]. *Veterynarna biotekhnolohiya – Veterinary biotechnology*, 32(2), 176-184 [in Ukrainian].

5. Kassich, V.Y. (2013). Mikobakteriyi ta yikh dyferentsiatsiya [Mycobacteria and their differentiation]. *Veterynarna medytsyna – Veterinary medicine*, 2(32), 106-109. [in Ukrainian].

6. Dyachenko, H. M., Kravchenko, N. O., & Romanenko, V. P. (2005). Problema diahnostryky tuberkul'ozu sil's'kohospodars'kykh tvaryn u suchasnykh umovakh [The problem of diagnosing tuberculosis of farm animals in modern conditions]. *Vet. medytsyna: Mizhvid. temat. nauk. zb. – Vet. medicine: Intern. them. scient. bull.*, 85, 1236-1240 [in Ukrainian].

7. Boyko, P. K., Nychyk, S. A., Boyko, O. P., Mandyhra, Y. U. M., & Shevchuk, V. M. (2020). Osoblyvosti infektsiynoho ta epizootychnoho protsesu za mikobakteriozu velykoyi rohatoyi khudoby, sprychynenoho atypovymy kyslotostiykymy mikobakteriyamy [Features of the infectious and epizootic process of mycobacteriosis of cattle caused by atypical acid-resistant mycobacteria]. *Veterynarna biotekhnolohiya – Veterinary biotechnology*, 37, 7-19. [in Ukrainian].
8. Todoriko, L. D., & Shevchenko, O. S. (2016). Suchasni aspekty lehenevoho mikobakteriozu (analychnyy ohlyad) [Modern aspects of pulmonary mycobacteriosis (analytical review)]. *Aktual'na infektolohiya – Current infectious disease*, 4(13), 13-21 [in Ukrainian].
9. Busol, V., Boiko, P., Bednarski, M., Shevchuk, V., & Mazur, V. (2023). Pathomorphological changes in the organs of the peripheral immune system in mycobacteriosis of cattle. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 14(2), 9-17 [in Ukrainian].
10. Zhurylo, O. A., Barbova, A. I., Trofimova, P. S., & Myronchenko, S. V. (2009). Vyvchennya vydovoyi riznomanitnosti netuberkul'oznykh mikobakteriy v oblastiakh Ukrayiny z vykorystanniam klasychnoho bakteriologichnoho metodu i suchasnoho henetychnoho DNK-strypovoho GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Nimechchyna) [Study of the species diversity of non-tuberculous mycobacteria in the regions of Ukraine using the classical bacteriological method and modern genetic DNA-strip GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Germany)]. *Ukr. pul'monol. zhurn – Ukr. pulmonol. journ*, 1, 27-30. [in Ukrainian].
11. Tkachenko, O. A., Bilan, M. V., Zazhars'kyy, V. V., & Koval'ova, L. O. (2010). Laboratorna diahnozyka tuberkul'ozu tvaryn : prakt. posib. [Laboratory diagnosis of animal tuberculosis: practice manual] Dnipro : Vyd-vo «Svidler A.L.» [in Ukrainian].
12. Feshchenko, Y. I., Zhurylo, O. A., & Barbova, A. I. (2019). Laboratorna diahnozyka tuberkul'oznoyi infektsiyi [Laboratory diagnosis of tuberculosis infection]. Kyiv : VSV «Medytsyna» [in Ukrainian].
13. Zhurylo, O. A. (2010). Standarty bakterioskopichnoyi diahnozyky tuberkul'ozu v kliniko-diahnostychnykh laboratoriyakh : monohrafiya [Standards of bacterioscopic diagnosis of tuberculosis in clinical and diagnostic laboratories: monograph]. Kyiv : VSV «Medytsyna» [in Ukrainian].
14. Zhurylo, O. A. (2012). Standarty bakteriologichnoyi diahnozyky tuberkul'ozu v laboratoriyakh protytuberkul'oznykh zakladiv Ukrayiny : monohrafiya [Standards of bacteriological diagnosis of tuberculosis in the laboratories of anti-tuberculosis institutions of Ukraine: monograph]. Kirovohrad : Polium [in Ukrainian].
15. Zhurylo, O. A. (2012). Systema zabezpechennya yakosti bakteriologichnykh doslidzhen' v zakladakh, shcho zdiysnyuyut' mikrobiologichnu diahnozyku tuberkul'ozu na riznykh rivnyakh nadannya medychnoyi dopomohy : monohrafiya [The system of ensuring the quality of bacteriological research in institutions that carry out microbiological diagnosis of tuberculosis at different levels of providing medical care: monograph]. Kirovohrad : Polium [in Ukrainian].
16. Veysfeller, Y. K. (1975). Byolohyya y yzmenchyvost' mykobakteryy tuberkuleza y atypychnye mykobakteryy [Biology and variability of Mycobacterium tuberculosis and atypical mycobacteria]. Budapesht : Yzd-vo Akademyy nauk Venhryy [in Russian].
17. Rastogi, N., Legrand, E., & Sola, C. (2001). The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. *Rev Sci Tech.*, 20, 21-54. [in English].